Beiträge zur Kenntnis

des

Hämatins und seiner Oxydationsprodukte.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karl-Universität Tübingen

vorgelegt von

Paul Völter

aus Cannstatt.

Tübingen, 1897.

Verlag von F. Pietzcker.

Beiträge zur Kenntnis

des

Hämatins und seiner Oxydationsprodukte.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karl-Universität Tübingen

vorgelegt von

Paul Völter

aus Cannstatt.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Tübingen, 1897.

Verlag von F. Pietzcker.

Von der Fakultät angenommen am 22. Mai 1897.

Druck von H. Laupp jr in Tübingen.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552309_0128

Vorliegende Arbeit wurde auf Anregung des Herrn Privatdozent Dr. W. Küster im physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen ausgeführt.

Ich nehme mit Freuden Gelegenheit, Herrn Dr. Küster meinen besten Dank auszusprechen für die gütige Unterstützung, die er mir bei dieser Arbeit angedeihen liess.

Besonderes Bedürfnis ist es mir, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. von Hüfner, für das während meiner Studienzeit mir in so reichem Masse bewiesene Wohlwollen und die vielseitige Anregung und Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank zu sagen.

Durch vorsichtige Oxydation des Hämins beziehungsweise Hämatins, sowie auch des Hämatoporphyrins, war es W. Küster gelungen, sehr charakteristische und gut krystallisierende Körper zu erhalten, denen er bis zur Feststellung ihrer Konstitution die Namen zwei- und dreibasische Hämatinsäure beilegte. Als Spaltungsprodukte des Eisen führenden Bestandteils der roten Blutkörperchen, beanspruchten diese Körper erhöhtes Interesse und durch ihre verhältnismässig einfache Zusammensetzung — sie enthalten nur 8 Atome Kohlenstoff — war die Möglichkeit näher gerückt, durch fortgesetzte Versuche einen Einblick in den Aufbau ihrer Molekel zu gewinnen. Als Ausgangsmaterial diente wie immer, das Hämin $C_{32}H_{31}CeN_4FlO_3$, welches ich aus dem nach Nencki's Angaben präparierten Blutpulver in der Weise darstellte, dass dasselbe an der Luft getrocknet und dann mit Amylalkohol und Salzsäure extrahiert wurde. Es wurde immer in Portionen von 70 gr verarbeitet, welche, wie sich aus verschiedenen Versuchen ergab, zwanzig Prozent Feuchtigkeit, mithin 56 gr Trockensubstanz enthielten und daher etwa 600 cc Blut entsprachen. Diese wurden zunächst mit 800 cc Amylalkohol zum Sieden erhitzt, dann erst wurden 15 cc Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,124 zugegeben, das ganze noch vier Minuten im Sieden erhalten und alsdann filtriert. Aus dem Filtrate setzten sich die Häminkrystalle am Boden der benützten Bechergläser ab und konnten dann, auf einem Filter gesammelt, einer weiteren Reinigung unterworfen werden. Der einmal benützte Amylalkohol wurde, wie früher schon von W. Küster, so auch von mir, wieder verwendet, da bei dem angegebenen Feuchtigkeitsgehalt des Blutpulvers die Qualität des erhaltenen Hämins nicht

leidet, und die Quantität sogar vermehrt wird. Denn es wurden aus einem Liter Blut erhalten:

Bei Verwendung neuen Amylalkohols 1,16 gr. Hämin.

Bei Verwendung gebrauchten Amylalkohols 1,70 gr Hämin.

Also war nicht nur Amylalkohol gespart, sondern auch die Ausbeute erhöht worden. Das bei 130° getrocknete Hämin wurde nun durch Lösen in Natronlauge in Hämatin übergeführt; dies gelang am besten, wenn das gepulverte Hämin mit etwas Alkohol angefeuchtet und dann mit heisser verdünnter Natronlauge übergossen wurde; ohne Zusatz von Alkohol löste sich das stark erhitzte Hämin manchmal nur schwierig auf. Die Lösung wird nun durch Glaswolle filtriert und durch schwaches Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure das Hämatin gefällt, abfiltriert, ausgewaschen und getrocknet. Zur weiteren Reinigung und um zugleich einen Anhaltspunkt für die anzuwendende Menge des Oxydationsmittels zu haben, wurden nun je 5 gr Hämatin in Natronlauge gelöst, was jetzt mit Leichtigkeit gelingt, mit verdünnter Schwefelsäure gefällt, filtriert und der Hämatinschlamm so lange ausgewaschen, bis keine Schwefelsäure im Waschwasser nachzuweisen war. Das scharf abgesaugte Hämatin wird dann in 300 gr siedenden Eisessigs gelöst und kann nunmehr durch Eintragen von dichromsaurem Natrium der Oxydation unterworfen werden. Es kam jetzt vor allem darauf an, eine möglichst grosse Ausbeute an Oxydationsprodukten zu gewinnen. Nach den Angaben von W. Küster erhielt dieser bei Oxydation mit 22 Atomen Sauerstoff die beste Ausbeute und zwar etwa ein Drittel des verwendeten Hämatins, während durch weitere Zuführung von oxydierenden Mitteln überhaupt keine der gesuchten gut krystallisierenden Säuren erhalten wurden. Auch hohe Temperaturen waren, wie ich fand, einer guten Ausbeute nicht günstig; z. B. erhielt ich mit 20 Atomen Sauerstoff bei 90 Grad 24—26 Prozent des angewandten Materials. Es gelang jedoch, die Ausbeute bis zu 45 Procent zu steigern, wenn ich nach folgender Vorschrift verfuhr. In die erkaltete Lösung von 5 gr Hämatin in 300 gr Eisessig wurde im Laufe von drei Tagen eine gesättigte wässrige Lösung von 9 gr

doppelt-chromsauren Natriums eingetragen. Da ein Grammmolekül doppeltchromsaures Natrium (gleich 262,8 gr) an das Hämatin voraussichtlich 3 Atome Sauerstoff abgeben wird, das Molekül des Hämatins aber 592 beträgt, so erfordern 5 gr Hämatin $\frac{262{,}8 \cdot 5}{3 \cdot 592} = 0{,}74$ gr $Na_2Cr_2O_7$, um mit einem Atom Sauerstoff oxydiert zu werden. 9 gr $Na_2Cr_2O_7$ entsprechen somit zwölf Atomen Sauerstoff für 5 gr Hämatin. Nach der angegebenen Zeit war immer noch Chromsäure nachweisbar, weshalb zur Vollendung der Reaktion auf etwa 50 Grad erwärmt wurde; in der That wurde nun die Chromsäure in kurzer Zeit vollends verbraucht. Jetzt wurde der Eisessig so weit möglich abdestilliert, und der Rest der Essigsäure auf dem Wasserbade vollständig vertrieben Hierbei schied sich ein brauner Niederschlag aus, der abfiltriert und mit schwefelsäurehaltigem Wasser solange ausgewaschen wurde, bis keine Färbung des ablaufenden Wassers mehr sichtbar war. Dieses Auswaschen ist ganz besonders zur Erlangung guter Ausbeuten nötig, weil der Niederschlag das Oxydationsprodukt hartnäckig zurückhält. Der Rückstand war eisenhaltig und wog durchschnittlich 2 gr. Das oben erhaltene Filtrat wird nun zur Vertreibung der gebundenen Essigsäure in sehr verdünnte Schwefelsäure gegossen und zwar in soviel, als nötig war, um das bei der Reduktion des doppelchromsauren Natriums sich bildende Chromacetat und Natriumacetat zu zerlegen. Es sind erforderlich für die beiden Chromoxyde 3, für die beiden Natriumatome 1, im ganzen also 4 Moleküle = 392 Gewichtsteile Schwefelsäure. Da nun 9 gr Natriumdichromat angewandt waren, so erfahren wir die nötige Schwefelsäuremenge in Grammen aus der Gleichung:

$$x = \frac{392 \cdot 9}{262{,}8} = 13.$$

Es wird wieder auf dem Wasserbade erhitzt, bis der Geruch nach Essigsäure verschwunden ist, was längere Zeit in Anspruch nimmt. Auch hierbei schied sich ein schwacher Niederschlag aus, dessen Menge nicht bedeutend war, und der grösstenteils aus Chrom-

verbindungen bestand. Es wurde deshalb filtriert, das Filtrat auf etwa 200 cc eingeengt und ausgeäthert; das Oxydationsprodukt löst sich mit gelber Farbe im Aether, und man setzt daher das Ausäthern zweckmässig so lange fort, bis keine Färbung des Aethers mehr stattfindet. Nach dem Abdestillieren und Verdunsten des Aethers bleibt eine wachsartige Masse zurück, die in kürzerer oder längerer Zeit zu prachtvollen Rosetten erstarrt. Die Ausbeute war folgende: Aus 5 gr Hämatin erhielt ich durch Oxydation mit 12 Atomen Sauerstoff

1) 2,20 gr Rohsäure = 44 Proz. vom Hämatin
2) 2,25 gr „ = 45 „ „ „
3) 2,20 gr „ = 44 „ „ „

aus 10 gr dagegen nur 3,8 gr Rohsäure = 38 Proz.; man muss also das Hämatin in möglichst kleiner Menge verarbeiten. Aus der mit kaltem Aether erschöpften Flüssigkeit konnte durch Extraktion mit warmem Aether noch eine in Aether schwer, in Alkohol sehr leicht lösliche Säure in ganz geringer Menge erhalten werden, welche bisher nicht weiter untersucht wurde. Im günstigsten Falle hatte ich also 45 Proz. des verwendeten Hämatins in Form der in Aether löslichen Säuren erhalten. Es entstand nun die weitere Aufgabe, noch nach anderen Oxydationsprodukten zu suchen. Zunächst war die Menge der Kohlensäure zu ermitteln, deren Auftreten bei der Oxydation des Hämatin's qualitativ bereits nachgewiesen war. Zu diesem Zwecke wurde folgende Versuchsanordnung getroffen. In das in einem Kolben mit doppelt durchbohrtem Kork befindliche in Essigsäure gelöste Hämatin wurde durch einen Tropftrichter die vorgeschriebene Menge des Oxydationsmittels in der angegebenen Zeit eingetragen. Zugleich wurde noch ein Rohr mit Schwefelsäure und ein solches mit Natronkalk vorgelegt, um die Luft reinigen zu können, die während des ganzen Versuchs durch den Apparat geleitet werden musste. Die sich entwickelnde Kohlensäure wird durch Schwefelsäure geleitet, und in vorgelegtem Natronkalk aufgefangen, welcher wiederum durch ein Schwefelsäure- und ein Natronkalkrohr gegen zutretende Luft geschützt ist. Um eine konstante Cirkulation

zu haben, liess man einen Luftstrom durchgehen. Es wurden 0,212 gr Kohlendioxyd aus 5 gr Hämatin erhalten, welche 0,0577 gr Kohlenstoff entsprechen. Bei einem zweiten Versuch wurden 0,210 gr Kohlendioxyd aus 5 gr Hämatin erhalten, entsprechend 0,0572 gr Kohlenstoff. Da ein Molekül Hämatin 32 Atome Kohlenstoff, 5 gr Hämatin $\frac{384 \cdot 5}{592} = 3{,}2$ gr Kohlenstoff enthalten, so wurde von der angewandten Hämatinmenge wenig mehr als $^1/_{60}$ des Kohlenstoffs in Kohlensäure übergeführt, d. h. nicht einmal ein Atom von jedem Molekül. Es geht also unter den angegebenen Bedingungen nur ein ganz geringer Teil des Kohlenstoffs als Kohlensäure verloren. Ob sich ausser den Hämatinsäuren noch andere Oxydationsprodukte in der ausgeätherten Flüssigkeit befinden, habe ich nicht untersucht, es scheint aber, dass ausser den Hämatinsäuren das erwähnte eisenhaltige Produkt, dessen Menge etwa 40 Proz. vom verwendeten Hämatin beträgt, den Hauptanteil der Reaktion ausmacht. Es ist auch stickstoffhaltig und löst sich in Alkalien auf, doch lag eine ausführliche Untersuchung desselben zunächst nicht im Bereich meiner Aufgabe und wurde daher unterlassen. Erwähnen will ich noch, dass neben der Oxydation in essigsaurer Lösung auch ein Versuch angestellt wurde, der darüber entscheiden sollte, ob auch bei gemässigter Oxydation mittelst übermangansauren Kali's sogleich Oxalsäure entsteht, da Nencki dieselbe neben Kohlensäure allein erhalten hatte. Es wurden hiezu 3 gr Hämatin in Soda gelöst und bei Zimmertemperatur eine Lösung von übermangansaurem Kali eingetragen. Es zeigte sich, dass bei 20° die 8 Atomen Sauerstoff entsprechende Menge des Oxydationsmittels rasch verbraucht wurde. Nachdem der Manganschlamm abfiltriert und derselbe gut ausgewaschen war, wurde angesäuert und mit Aether extrahiert. Die gelb gefärbte ätherische Lösung hinterliess nach dem Verdunsten des Lösungsmittels einen krystallinischen, stark sauer reagierenden Rückstand, welcher seinem Aussehen nach vielleicht dasselbe Oxydationsprodukt enthielt, das bei der Oxydation in saurer Lösung entsteht. Jedenfalls konnte hierbei Oxalsäure nicht nachgewiesen

werden; wegen zu geringer Ausbeute wurde jedoch der Versuch nicht wiederholt.

Reinigung und Trennung der Oxydationsprodukte.

Das auf die angegebene Weise erhaltene ätherlösliche Rohprodukt wurde zur Reinigung in Soda gelöst und die alkalische Lösung mit Aether ausgeschüttelt, wobei nur geringe Mengen in denselben übergingen, so aus 41 gr Rohsäure 2,10 gr. Nun wurde mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und so lange ausgeäthert bis keine Färbung des Aethers mehr stattfand. Nach dem Abdestillieren des Aethers krystallisiert das Oxydationsprodukt bereits viel rascher, ist aber nicht einheitlich, sondern besteht, wie Küster fand, aus einem Gemisch zweier Säuren, zu deren Trennung ich das folgende Verfahren einschlug. Es wird in kaltem Wasser gelöst und die Lösung bei niederer Temperatur so lange mit kohlensaurem Calcium behandelt, bis eine Entwicklung von Kohlensäure nicht mehr beobachtet wurde; dann wird von dem überschüssigen Calciumkarbonat abfiltriert und die klare Lösung auf dem Wasserbade erhitzt. Hierbei fällt das Calciumsalz der dreibasischen Hämatinsäure aus, während das der zweibasischen Säure in Lösung bleibt, und somit durch Abfiltrieren getrennt werden kann; worauf das Filtrat im Vacuum über Schwefelsäure eingedunstet wird. Bei meinen Versuchen zeigte sich nun, dass der weitaus grösste Teil der durch Oxydation des aus Rinderblut gewonnenen Hämins erhaltenen Säure aus zweibasischer Hämatinsäure bestand. Um diese völlig rein zu erhalten, wird das Calciumsalz aus möglichst wenig heissem Wasser umkrystallisiert; hierbei bleiben geringe Mengen eines Calciumsalzes ungelöst, die, wie ich zeigen werde, von einer Umwandlung in die dreibasische Hämatinsäure herrühren und abfiltriert werden. Durch Einstellen des Filtrats in eine Kältemischung und kräftiges Umrühren scheidet sich dann das Calciumsalz als dicker Brei verfilzter Nadeln wieder aus und wird durch Absaugen von der Mutterlauge getrennt, die ausser dem Calciumsalz der zweibasischen Säure noch geringe Mengen leichtlöslicher Calciumsalze

enthält. Aus dem nunmehr reinen Calciumsalz lässt sich durch Lösen in Wasser, Ansäuern mit Schwefelsäure und Ausäthern die zweibasische Hämatinsäure gewinnen. Die nach Verdunstung des Aethers in schönen zu Rosetten vereinigten Krystallen erhaltene Säure wird im Vacuum getrocknet, dann in wenig absolutem Aether gelöst und die Lösung mit Petroläther versetzt; und zwar werden am besten die zwischen 60 und 80 ° destillierenden Anteile desselben verwendet. Nach einiger Zeit scheidet sich dann die Säure in prachtvollen, farblosen, zu Büscheln vereinigten Nadeln ab.

Aus dem beim Erhitzen ausgefallenen Calciumsalz wird auf analoge Weise wie die zweibasische Säure ein ebenfalls in Rosetten krystallisierender Körper gewonnen, der die Zusammensetzung $C_8H_8O_5$ besitzt und als Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure bezeichnet worden ist.

Die Analyse der zweibasischen Säure, welche den Schmelzpunkt 111,5 zeigt, ergab, nachdem bis zur Gewichtskonstanz im Vacuum getrocknet worden war, das folgende Resultat:

I. 0,0410 gr Substanz lieferten 0,0775 gr Kohlendioxyd [1]).

II. 0,1390 gr Substanz lieferten 0,2640 gr Kohlendioxyd und 0,066 gr Wasser.

Berechnet für $C_8H_{10}O_5$		Gefunden	I.	II.
C	51,61 Proz.		51,55 Proz.	51,70 Proz.
H	5,37 Proz.			5,27 Proz.
O	43,02 Proz.			

Diese Analysen bestätigen also die von W. Küster angegebene Zusammensetzung $C_8H_{10}O_5$.

Titration der zweibasischen Hämatinsäure.

Bei der Titration der zweibasischen Hämatinsäure, welche mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge ausgeführt wurde, stiess ich insofern auf Schwierigkeiten, als dieselbe nicht direkt gelang. Es wurden einmal 0,211 gr, das andere Mal 0,185 gr Säure in Wasser gelöst. Diese hätten, wenn $C_8H_{10}O_5$ zweibasisch ist, zur Neutralisation er-

1) Das Wasser ging verloren.

fordern sollen: 22,68 cc respektive 19,9 cc, thatsächlich gebraucht wurden aber 27,5 cc respektive 55 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge, also von der berechneten sehr abweichende Mengen. Versetzt man aber mit einem Ueberschuss von $^1/_{10}$ Normalnatronlauge und titriert zurück, so werden richtige Resultate erhalten. Eine Lösung von 0,2610 gr Säure in 50 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge verbrauchte beim Rücktitrieren 23 cc $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Also waren 50—23 = 27 cc $^1/_{10}$ Normatnatronlauge von der Hämatinsäure neutralisiert worden, während sich berechnen 27,5 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Die Säure $C_8H_{10}O_5$ ist also in der That zweibasisch.

Salze der zweibasischen Hämatinsäure.

Das Ammoniumsalz:

Die Säure wird in wasserfreiem Aether gelöst und in diese Lösung Ammoniakgas eingeleitet. Nach kurzer Zeit fällt ein voluminöser Niederschlag aus, der abgesaugt und getrocknet wird. Der erhaltene Körper löst sich leicht in Wasser, schwer in Chloroform und kaltem Alkohol, leichter in warmem Alkohol, ist unlöslich in Aether. Aus Alkohol umkrystallisiert zeigt er, stark vergrössert, krystallinische Struktur. Eine Bestimmung des Stickstoffgehalts wurde durch Titration vorgenommen, indem 0,151 gr des Salzes in Wasser gelöst, dieser Lösung 50 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge zugesetzt und bis zur Vertreibung des Ammoniaks gekocht wurden. Alsdann wurde mit $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure zurücktitriert. Verbraucht wurden hiezu 36 cc $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure, somit waren zur Vertreibung des Ammoniaks notwendig 50—36 = 14 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Als Indikator diente Lakmus. Da 1 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge = 0,0014 gr Stickstoff, so entsprechen 14 cc 0,0196 gr Stickstoff.

Berechnet für $C_8H_8O_5(NH_4)_2$:	Gefunden:
N = 12,72 Proz.	12,98 Proz.

Auf die angegebene Weise wird also das neutrale Ammoniumsalz erhalten. Dasselbe zeigt eine gelbliche Färbung.

Das saure Calciumsalz der zweibasischen Hämatinsäure.

Zur Darstellung des Calciumsalzes der zweibasischen Hämatinsäure wurde die wässerige Lösung der Säure in der Kälte mit frisch geschlämmtem Calciumkarbonat längere Zeit behandelt, die vom Calciumkarbonat abfiltrierte Lösung auf dem Wasserbad erhitzt und ein hiebei sich bildender kleiner Niederschlag abfiltriert. Die Lösung lässt man jetzt im Vakuum über Schwefelsäure verdunsten [1]). Das eingetrocknete Salz wird dann in wenig heissem Wasser gelöst, durch einen Heisswassertrichter filtriert und durch Einstellen in eine Kältemischung und starkes Umrühren Krystallisation bewirkt. Das Salz scheidet sich hiebei in kleinen zu Büscheln vereinigten Nadeln ab, kann aber auch beim langsamen Auskrystallisieren in schönen Nadeln erhalten werden, die in Wasser und Weingeist leicht, in absolutem Alkohol gar nicht löslich sind. Es enthält Krystallwasser. Bei Bestimmung desselben ergab sich, dass das Salz nicht höher als auf 115° erhitzt werden durfte, widrigenfalls eine Zersetzung eintrat.

Eine Analyse zeigte, dass sich auf die angegebene Weise das saure Salz der zweibasischen Hämatinsäure bildet, denn über Schwefelsäure vier Tage getrocknete 1,114 gr Substanz gaben 0,0835 gr Wasser und 0,1393 gr CaO = 0,09951 gr Ca.

Berechnet für $(C_8H_9O_5)_2Ca + 2H_2O$:	Gefunden:
Ca = 8,96 Proz.	8,94 Proz.
H_2O = 8,07 Proz.	7,5 Proz.

Molekulargewichtsbestimmung des Calciumsalzes.

Die nach der Raoult'schen Methode im Beckmann'schen Apparate ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung ergab folgendes:

Lösungsmittel Phenol; K = 7500

Phenol	Kalksalz in Grammen	△	Gefundenes Molekulargewicht	Berechnet für $[(C_8H_9O_5)_2Ca]_2$
18,25	0,1235	0,06	837	820

1) Sehr eigentümlich ist es, dass sich in kurzer Zeit in der an der Luft stehenden Lösung ganze Kolonien von Pilzen bilden, die bis jetzt nicht näher bestimmt wurden.

Das Silbersalz:

Das Silbersalz der zweibasischen Hämatinsäure wurde aus dem soeben besprochenen Calciumsalz gewonnen, indem die Lösung des letzteren in 50prozentigem Weingeist durch eine weingeistige Lösung von Silbernitrat gefällt wurde. Das mit Alkohol ausgewaschene Salz wurde im Vacuum getrocknet. Die Analyse ergab, dass sich das neutrale Salz gebildet hatte.

I. 0,1513 gr Substanz lieferten 0,1335 gr Kohlendioxyd und 0,029 gr Wasser.

II. Das Silber wurde als Schwefelsilber bestimmt, indem mit Hilfe von Schwefelsäure in Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff gefällt wurde. 0,5475 gr Salz gaben 0,3380 gr Schwefelsilber.

Berechnet für $C_8H_8O_5Ag_2$:	Gefunden:	
	I.	II.
C = 24,00 Proz.	24,05 Proz.	
H = 2,00 »	2,12 »	
Ag = 53,84 »		53,75 Proz.

Das Baryumsalz:

Dasselbe wird durch Digerieren der in Wasser gelösten Säure mit frisch geschlämmtem Baryumkarbonat gewonnen. Nachdem von überschüssigem Baryumkarbonat abfiltriert ist, wird erst auf dem Wasserbade und dann im Vacuum verdunstet. Das erhaltene Präparat wird wieder in wenig heissem Wasser gelöst und in einer offenen Schale allmählich krystallisieren gelassen. Die Krystalle sind leicht in heissem und kaltem Wasser löslich und enthalten Krystallwasser. Die Bestimmung des Baryums geschah als Baryumoxyd nach Fällung mit kohlensaurem Ammonium in ammoniakalischer Lösung.

I. 0,6170 gr Substanz gaben 0,270 gr Baryumoxyd.

II. 0,330 gr Substanz verloren beim Trocknen bei 110° 0,025 gr Wasser und gaben 0,144 gr Baryumoxyd.

Berechnet für $C_8H_8O_5Ba + 1^1/_2 H_2O$:	Gefunden:	
	I.	II.
Ba = 39,3 Proz.	39,17 Proz.	39,03 Proz.
H_2O = 7,75 »	7 »	7,0 »

Es ergiebt sich also die bemerkenswerte Thatsache, dass unter sonst ganz gleichen Bedingungen die zweibasische Hämatinsäure mit Calcium das saure, mit Baryum das neutrale Salz bildet.

Um nun auch das dritte Erdalkalimetall in dieser Hinsicht zu prüfen, wurde

das Strontiumsalz

dargestellt, indem die in Wasser von niederer Temperatur gelöste Säure in der Kälte mit frisch bereitetem Strontiumkarbonat behandelt wurde, bis keine Entwicklung von Kohlensäure mehr stattfand. Die abfiltrierte Lösung lässt man im Vacuum eintrocknen, nimmt das erhaltene Produkt in wenig heissem Wasser wieder auf, filtriert mit Hilfe eines Heisswassertrichters und lässt krystallisieren. Das Salz krystallisiert in sehr schönen zu Bündeln sich vereinigenden prismatischen Nadeln, ist leicht in kaltem und jedem Verhältnis in heissem Wasser löslich, jedoch unlöslich in Alkohol; es enthält Krystallwasser, das bei 115 ° entweicht. Die Analyse ergab, dass sich das Strontiumsalz dem Calciumsalz ähnlich verhält, indem ein saures Salz sich gebildet hat.

0,2695 gr Substanz verloren beim Trocknen 0,028 gr H_2O und gaben mit Schwefelsäure behandelt 0,096 gr $SrSO_4$.

Berechnet für $(C_8H_9O_5)_2Sr + 3\,H_2O$:	Gefunden:
Sr = 17,04 Proz.	16,98 Proz.
H_2O = 10,56 »	10,70 »

Der Dimethylester der zweibasischen Hämatinsäure.

Die Darstellung des neutralen Esters gelang nach folgender Methode: Das bei 110 ° scharf getrocknete Silbersalz wurde mit Benzol übergossen und mit einem Ueberschuss von Jodmethyl in einem mit Steigrohr versehenen trockenen Kölbchen auf dem Wasserbad bei 50 ° behandelt. Nach kurzer Zeit trat eine Reaktion ein. Zur Vollendung derselben wurde noch etwa eine Stunde lang erwärmt. Nun wurde von dem gebildeten Jodsilber abfiltriert, dasselbe mit Alkohol nachgewaschen und die erhaltene braune Flüssigkeit auf dem Wasserbad zur Wegschaffung des Benzols und überschüssigen

Jodmethyls gelinde erwärmt. Der Ester wird dann durch Wasser gefällt und gut gewaschen. Derselbe blieb längere Zeit ölig und konnte erst nach mehrmaligem Lösen und Reinigen durch Aether in kleinen spitzen Nädelchen krystallisierend erhalten werden vom Schmelzpunkt 90 °. Derselbe besitzt einen stark bitteren Geschmack, reagiert neutral und ist in Aether und Weingeist, nicht in Wasser löslich. Seine Lösung in Toluol addiert Brom. Die Analyse ergab folgende Werte:

0,100 gr Substanz lieferten 0,2040 gr Kohlendioxyd und 0,062 gr Wasser.

Berechnet für $(C_6H_8O)\begin{matrix}COOCH_3\\COOCH_3\end{matrix} = C_{10}H_{14}O_5$; Gefunden:

C =	56,07 Proz.	55,64 Proz.
H =	6,54 »	6,8 »

Benzoylierungs-Versuch der zweibasischen Hämatinsäure.

Eine Benzoylierung in alkalischer Lösung mit Benzoylchlorid gelang nicht. Ebenso wenig ein Versuch, mit Benzoylchlorid bei erhöhter Temperatur die Säure direkt zu behandeln, da sich in beiden Fällen nur Benzoesäure bildete, während die zweibasische Hämatinsäure unverändert zurückerhalten wurde. Es wurde nunmehr nach den Angaben von J. Wislicenus [1]) mit dem Calciumsalz der Hämatinsäure versucht; 2 gr des Salzes wurden bei 110 ° getrocknet und mit der berechneten Menge Benzoylchlorid bei 125 ° einige Stunden im Glycerinbad erhitzt. Durch Ausschütteln mit Aether wurde gebildete wenige Benzoesäure entfernt, während eine zähe Masse zurückblieb, die in verdünntem Alkohol löslich war. Nach Fällen des Calciums durch Schwefelsäure wurde das Filtrat ausgeäthert und ein in Nadeln rapid krystallisierender Körper erhalten, der in Wasser schwer, in Alkohol und alkoholischem Aether leicht löslich ist. Derselbe wurde aus der ätherischen Lösung durch Petroläther gefällt, mit Wasser wenig ausgewaschen und wieder aus

1) Annal. 133. 277.

Aether umkrystallisiert. Derselbe zeigt den Schmelzpunkt 91—92°. Die Analyse ergab nun, dass nicht wie erwartet eine benzoylierte Säure erhalten wurde, sondern ein Anhydrid der zweibasischen Hämatinsäure, denn es gaben:

I. 0,1285 gr Substanz 0,2675 gr Kohlendioxyd u. 0,061 gr Wasser
II. 0,140 gr » 0,2920 gr » » 0,065gr » [1]).

Berechnet für $C_8H_8O_4$:	Gefunden:	
	I.	II.
C = 57,14 Proz.	56,77 Proz.	56,84 Proz.
H = 4,76 »	5,26 »	5,15 »

Aus diesem Anhydrid wurde noch das Anilid dargestellt und zwar durch mehrstündiges Erhitzen mit Anilin auf dem Wasserbad in alkoholischer Lösung. Den Alkohol lässt man nun verdunsten und nimmt den Rückstand mit Aether wieder auf; nach einiger Zeit krystallisierte ein Körper aus, der jedoch mit Anilin verunreinigt war und deshalb mit ätherhaltigem Benzol wieder gelöst wurde. Hiebei krystallisiert nun das Anilid in sehr schönen Stäbchen aus, die nach wiederholtem Umkrystallisieren und nach dem Trocknen im Vakuum den Schmelzpunkt 113° zeigten. Der Körper ist schwer löslich in Wasser, leicht löslich in Aether und Alkohol, fast unlöslich in Benzol und zeigt eine schwach gelbliche Farbe. Eine Stickstoffbestimmung gab folgendes Resultat:

0,1290 gr Sustanz gaben bei 740 mm Barometerstand und 23° Celsius 10,1 cc Stickstoff.

Berechnet für $(C_6H_8C)\begin{matrix}CoNHC_6H_5\\CoNHC_6H_5\end{matrix} - C_{20}H_{20}O_3N_2$:	Gefunden:
N = 8,33 Proz.	8,5 Proz.

Eine Benzoylierung der scharf getrockneten und in wasserfreiem Aether gelöste Säure mit der berechneten Menge Benzoylchlorid gelang ebenfalls nicht, ebenso wenig ein Acetylierungsversuch. Mit Phenylhydrazin ein Hydrazon zu erhalten, hatte ebenfalls einen negativen Erfolg.

1) Bei 80° getrocknet.

Ueberführung von zweibasischer in dreibasische Hämatinsäure.

Die bei der Oxydation von Hämin aus Rinderblut nur in kleinen Mengen auftretende dreibasische Hämatinsäure war schon von W. Küster als ein durch weitergegangene Oxydation aus der zweibasischen Säure entstandenes sekundäres Produkt angesprochen worden, allerdings lediglich auf Grund der Formeln $C_8H_{10}O_5$ und $C_8H_{10}O_6$. Für diese Auffassung sprach auch eine Beobachtung, welche ich gelegentlich der Bestimmung des Baryumgehaltes im entsprechenden Salze der zweibasischen Hämatinsäure machte. Es war die wässrige Lösung durch Schwefelsäure gefällt worden, das Ganze hatte einige Stunden auf dem Wasserbad gestanden. Durch Ausäthern der vom Baryum abfiltrierten Lösung wurde jetzt eine Säure erhalten, deren Schmelzpunkt bei 94 ° lag und deren Calciumsalz beim Erhitzen sofort ausfiel. Demnach schien schon der Sauerstoff der Luft im Stande zu sein, die Oxydation herbeizuführen. Um den Uebergang genau zu ermitteln, das heisst die Bedingungen, unter denen er erfolgt, festzustellen, wurden nun folgende Versuche angestellt:

1. Oxydationsversuch in saurer Lösung mit dichromsaurem Natrium.
2. Oxydationsversuch in alkalischer Lösung:
   a) durch Silbernitrat,
   b) durch rotes Blutlaugensalz.
3. Oxydation durch Quecksilberoxyd in neutraler Lösung.

1. In saurer Lösung:

Zwei Gramm des Caliumsalzes der zweibasischen Hämatinsäure wurden in Eisessig gelöst und eine Lösung von 0,76 gr dichromsaurem Natrium, entsprechend einem Atom Sauerstoff, eingetragen. Bei gewöhnlicher Temperatur fand keine sichtbare Einwirkung statt. Die Farbe des dichromsauren Natriums blieb bestehen. Es wurde deshalb etwa eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, aber auch hiebei wurde die Chromsäure nicht verbraucht, da eine herausgenommene Probe mit essigsaurem Blei einen starken gelben Niederschlag gab. Die Flüssigkeit wurde nun zur Reduktion der Chromsäure

mit Natriumsulfid versetzt, darauf das Ganze bis zum Verschwinden des Geruchs nach Essigsäure auf dem Wasserbade erwärmt. Die ausgeätherte Säure wurde nach dem Verdampfen des Lösungsmittels getrocknet, in absolutem Aether gelöst und durch Zusatz von Petroläther zur Krystallisation gebracht. Sie erwies sich durch die Analyse als reine zweibasische Hämatinsäure.

0,0940 gr Substanz lieferten 0,1775 gr Kohlendioxyd und 0,0435 gr Wasser.

Berechnet für $C_8H_{10}O_5$:	Gefunden:
C = 51,61 Proz.	51,49 Proz.
H = 5,37 „	5,14 „

Wegen der grossen Wichtigkeit, welche diesem Versuch beizumessen war, wurde eine Wiederholung für nötig befunden. Diesmal wurde die essigsaure Lösung der Säure vier Stunden lang auf dem Wasserbad bei 90° mit dem Oxydationsmittel behandelt. Aber auch hiebei trat keine sichtbare Reaktion — weder Gasentwicklung noch Verfärbung — ein. Deshalb wurde wie angegeben die Chromsäure reduziert, die Essigsäure vertrieben und ausgeäthert. Von der wiedergewonnenen Säure wurde das Calciumsalz dargestellt dasselbe erwies sich als das der zweibasischen Hämatinsäure.

0,550 gr Substanz lieferten 0,0708 gr Calciumoxyd = 0,050575 gr Calcium.

Berechnet für $(C_8H_9O_5)_2Ca + 2H_2O$:	Gefunden
Ca = 8,96 Proz.	9,01 Proz.

Hierdurch halte ich es für erwiesen, dass in eisessigsaurer Lösung durch dichromsaures Natrium keine Oxydation der zweibasischen zur dreibasischen Säure bewirkt wird, das Auftreten von dreibasischer Hämatinsäure unter den Oxydationsprodukten des Hämatins kann also nicht so gedeutet werden, dass zunächst die zweibasische Hämatinsäure entsteht und Teile derselben einer weiteren Oxydation unterliegen. Vielmehr ist anzunehmen, dass sich bei der Oxydation des aus Rinderblut gewonnenen Hämins nach dem im Eingang beschriebenen Verfahren zunächst nur die zweibasische Hämatinsäure bildet. Die geringen Mengen von dreibasischer Säure

treten erst dann auf, wenn die zweibasische Hämatinsäure in alkalischer Lösung der Einwirkung des Luftsauerstoffs ausgesetzt wird, und hier scheint schon die Gegenwart des Calciumkarbonats eine Rolle zu spielen, so dass, wenn man nicht rasch arbeitet, bei der Ueberführung in das Calciumsalz ein allerdings kleiner Teil oxydiert wird. Begünstigt wird ferner die Oxydation in der Wärme. Die Lösung das Calciumsalzes der zweibasischen Hämatinsäure kann in einer offenen Schale nicht eingedampft werden, ohne dass sich das unlösliche Calciumsalz der dreibasischen Hämatinsäure in mehr oder minder beträchtlicher Menge abscheidet. Wird nun gar in alkalischer Lösung ein Oxydationsmittel in berechneter Menge hinzugefügt, so geht die zweibasische Hämatinsäure quantativ in die dreibasische über; dies beweisen die folgenden Versuche:

Eine Lösung der zweibasischen Hämatinsäure in Wasser wurde mit Ammoniak neutralisiert, zum Sieden erhitzt und Silbernitrat eingetragen, bis sich kein Niederschlag mehr bildet; das abfiltrierte, mit Wasser gut ausgewaschene Silbersalz wird im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Analyse [1]) des Salzes ergab folgendes Resultat:

I. 1,2945 gr Substanz gaben 0,8940 gr Schwefelsilber = 0,77842 gr Silber.

II. 0,2420 gr verloren beim Trocknen bei 110° 0,04 gr Wasser und lieferten 0,1690 gr Schwefelsilber = 0,147148 gr Silber.

Berechnet für $C_8H_7Ag_3O_6 + {}^1/_2H_2O$:	Gefunden	
	I.	II.
Ag = 60,80 Proz.	60,2 Proz.	60,80 Proz.
H_2O = 1,69 „		1,65 „

Es wird somit die zweibasische Hämatinsäure in siedender ammoniakalischer Lösung durch Silbernitrat in die dreibasische Hämatinsäure übergeführt.

b) Durch rotes Blutlaugensalz.

1) Dieselbe Konstitution und Krystallwassergehalt fand Herr Dr. Küster, wie folgende Analysen bestätigen:

I. Im Vakuum getrocknet Ag 60,35 Proz. H_2O 1,46 Proz.

II. Bei 110° getrocknet Ag 61,65 Proz.

Zwei gr des Calciumsalzes der zweibasischen Hämatinsäure wurden in Wasser gelöst und mit einer alkalischen Lösung von 2,94 gr roten Blutlaugensalzes = 1 Atom Sauerstoff versetzt.

$$2K_3FeCy_6 + 2KOH = 2K_4FeCy_6 + H_2O + O.$$

Nach etwa sechsstündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur, wurde noch kurze Zeit auf dem Wasserbad erwärmt, und dann das Ganze in einer Porzellanschale mit Schwefelsäure angesäuert und bis zum Verschwinden des Geruchs nach Blausäure erwärmt; beim weiteren Einengen schied sich aus der Flüssigkeit ein wohl aus Berlinerblau bestehender Niederschlag aus, von dem abfiltriert wurde. Das Filtrat gab an Aether einen Körper ab, der nach erfolgter Reinigung den Schmelzpunkt 94° zeigte und weiter an der charakteristischen Eigenschaft des Calciumsalzes als Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure erkannt wurde. Auch die Analyse bestätigte diese Zusammensetzung:

I. 0,1730 gr Substanz gaben 0,086 gr $CaCO_3$.

II. 0,2882 gr Substanz gaben 9,1430 gr $CaCO_3$.

Berechnet für $C_{32}H_{28}Ca_5O_{23}$: [1])	Gefunden:	
	I.	II.
Ca = 20,4 Proz.	19,92 Proz.	19,9 Proz.

In alkalischer Lösung wird also die zweibasische Hämatinsäure leicht und glatt durch die verschiedenartigsten Oxydationsmittel in die dreibasische übergeführt.

III. Oxydation in neutraler Lösung durch Quecksilberoxyd.

Aehnliches ergab sich bei der Darstellung des Quecksilbersalzes. In die zum Sieden erhitzte wässrige Lösung der zweibasischen Hämatinsäure, wurde gelbes Quecksilberoxyd eingetragen, und das Ganze längere Zeit im Sieden erhalten. Jetzt wird rasch abfiltriert, eingedampft und die Lösung in eine Kältemischung gestellt. So wurde ein Quecksilbersalz in kleinen Würfeln erhalten, das sich

1) Dieser Calciumgehalt entspricht einem basischen Salz von der Zusammensetzung $C_{32}H_{28}Ca_5CO_{23}$, für welches 20,4 Proz. Ca sich berechneten und scheint sich dieses Calciumsalz mit Vorliebe unter den angegebenen Bedingungen zu bilden. Wenigstens wurden gewöhnlich von Herrn Dr. Küster dieselben Werte gefunden.

schwer und unvollständig in kaltem, leicht in heissem Wasser auflöst. Das nach dem Trocknen im Vakuum erhaltene Präparat ergab bei der Analyse folgendes:

0,430 gr Substanz lieferten 0,249 gr Schwefelquecksilber.

Berechnet für $C_8H_8O_6Hg$:	Gefunden:
Hg = 50,0 Proz.	50,0 Proz.

es ist also auch hier Oxydation eingetreten und hat zur Bildung des Quecksilbersalzes der dreibasischen Hämatinsäure geführt.

Titration der dreibasischen Hämatinsäure.

Bei der Titration verhält sich das Produkt, dem die Formel $C_8H_8O_5$ zukommt, wesentlich verschieden je nachdem man in wässriger oder alkoholischer Lösung arbeitet. Als Indikator diente jedesmal Phenolphtalein.

I. 0,1235 gr $C_8H_8O_5$ verbrauchten in wässriger Lösung zur Neutralisation 19,60 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Es ergiebt sich hieraus, dass die „dreibasische Säure“ in wässriger Lösung dreibasisch ist, denn es berechnet sich für dreifache Basizität 20,10 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

In alkoholischer Lösung verhält sich die Säure wesentlich anders:

II. In alkalischer Lösung, mit alkoholischer $^1/_{10}$ Normalnatronlauge, verbrauchten, 0,119 gr Substanz zur Neutralisation 12,5 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

III. In einem weiteren Versuch in alkalischer Lösung verbrauchten 0,1095 gr Substanz zur Neutralisation 11,90 cc $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Es ist somit in alkoholischer Lösung nur doppelte Basizität nachzuweisen.

Berechnet für doppelte Basizität waren:		Verbraucht wurden:	
II.	III.	II.	III.
12,94 ccm	11,90 ccm	12,50 ccm	11,90 ccm $^1/_{10}$ N. NaOH.

Das Verhalten dürfte vielleicht dadurch seine Erklärung finden, dass auch der Alkohol die Anhydridbildung sprengt und hiebei eine Estersäure bildet, die natürlich nur noch als zweibasische Säure fungieren kann.

Oxydation der dreibasischen Hämatinsäure.

Zur Aufklärung der Konstitution der fraglichen Säuren wurde das Produkt von der Formel $C_8H_8O_5$ der weiteren Oxydation unterworfen:

A) in alkalischer Lösung mit Ferridcyankalium,

B) in saurer Lösung.

A) In alkalischer Lösung wurden 3 gr dreibasische Hämatinsäure mit Ferridcyankalium zuerst bei gewöhnlicher Temperatur, dann einige Stunden auf dem Wasserbad behandelt. Es wurde keine Einwirkung oder Kohlesäureentwicklung wahrgenommen, jedoch wurden allmählich 10 gr Ferridcyankalium eingetragen. Nach dem Erkalten wurde mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Die erhaltene Säure krystallisierte sofort in schönen Tafeln und wurde nochmals aus Aether und Petroläther umkrystallisiert; sie zeigte dann einen Schmelzpunkt von 98°. Eine Analyse ergab, dass das Produkt unveränderte dreibasische Hämatinsäure war von grosser Reinheit und vollständig wasserfrei.

I. 0,1260 gr Säure gaben 0,2392 gr Kohlendioxyd und 0,052 gr Wasser.

II. 0,1025 gr Säure gaben 0,1960 gr Kohlendioxyd und 0,040 gr Wasser.

Berechnet für $C_8H_8O_5$:	Gefunden;	
	I.	II.
C = 52,17 Proz.	51,85 Proz.	52,14 Proz.
H = 4,35 »	4,58 »	4,33 »

B) In saurer Lösung:

Vorversuche zeigten, dass eine Oxydation in saurer Lösung durch doppelchromsaures Natrium möglich war. Es wurden nun 4,70 gr $C_8H_8O_5$ in Essigsäure gelöst und die drei Atome Sauerstoff entsprechenden Menge doppelchromsauren Natriums in wässriger Lösung eingetragen. Schon bei gewöhnlicher Temperatur erfolgte eine Einwirkung und als dann auf dem Wasserbad erwärmt wurde, begann eine lebhafte Entwicklung von Kohlensäure. Die verwendete Menge Chromsäure war in kurzer Zeit verbraucht. Nun wurde wieder die Essigsäure zuletzt unter Zusatz der berechneten Menge Schwefel-

säure, verjagt und dann der Rest an flüchtigen Produkten mit Wasserdämpfen übergetrieben. Doch liessen sich in dem mit Soda gesättigten, darauf eingedampften Destillat nur noch Spuren einer Säure nachweisen, die ihrem Geruch nach zu urteilen vielleicht Baldriansäure war. Die nicht flüchtigen Oxydationsprodukte konnten, nachdem mit Schwefelsäure angesäuert worden, durch Ausschütteln mit Aether, was etwa dreissigmal wiederholt werden musste, abgetrennt werden. Durch Abdestillieren des Aethers wurde ein Gemisch von verschiedenen Körpern erhalten, wie dies schon die verschiedenartige Krystallform, unter dem Mikroskop betrachtet, zeigte. Auch die Löslichkeit war eine verschiedene, und dies konnte zur Trennung des Gemisches benutzt werden. Zunächst blieb beim Wiederaufnehmen mit Aether eine darin sehr schwerlösliche Säure A zurück. Die in diesem Lösungsmittel leichter löslichen Anteile liessen sich endlich durch ihr Verhalten gegen kaltes Wasser trennen, indem der eine B sehr leicht löslich war, der andere C ziemlich schwer.

Oxydations-Produkt A.

Das in Aether schwer lösliche Oxydationsprodukt A wurde durch Auswaschen mit Wasser gereinigt und stellt eine in Blättern krystallisierende Masse vor, die bei ca 205° schmilzt. Bei der Analyse ergaben sich folgende Werte:

0,0855 gr Substanz lieferten 0,1290 gr Kohlendioxyd und 0,039 gr Wasser.

Die analytischen Resultate lassen sich am besten auf eine Säure beziehen, welche die Zusammensetzung $C_8H_{10}O_8$ besitzt.

Berechnet für $C_8H_{10}O_8$:	Gefunden:
C = 41,02 Proz.	41,1 Proz.
H = 4,3 »	5,06 »

Die Formel drückt zugleich das Molekulargewicht aus, denn die nach der Raoult'schen Methode im Bekmann'schen Apparat ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung ergab folgendes:

Lösungsmittel Phenol; K = 7500.

Phenol	Säure	△	Gefundenes Molekulargewicht	Berechnetes Molekulargewicht
13,26	0,111	0,250	195	234

Es wurde noch das Silbersalz dargestellt, dadurch, dass die Lösung der Säure in 50prozentigem Alkohol nach dem Neutralisieren mit Ammoniak durch alkoholische Silbernitratlösung gefällt wurde. Das Salz wurde mit verdünntem Weingeist ausgewaschen und im Vakuum getrocknet; dasselbe zeigte auch nach dem Trocknen eine schöne weisse Farbe, löst sich leicht in Ammoniak und reizt sehr stark zum Husten. Die Analyse ergab folgende Werte:

I. 0,1915 gr Substanz lieferten 0,1225 gr Kohlendioxyd und 0,029 gr Wasser, im Schiffchen blieben 0,1125 gr Silber zurück.

II. 0,3790 gr Substanz gaben 0,253 gr Schwefelsilber = 0,22028 gr Silber.

Berechnet für $C_8H_7O_8Ag_3$:	Gefunden:	
	I.	II.
C = 17,3 Proz.	17,3 Proz.	—
H = 1,26 »	1,67 »	—
Ag = 58,37 »	58,7 »	58,09 Proz.

Nach der Konstitution des Silbersalzes scheint die Säure also dreibasisch zu sein. Ein anderes Resultat ergiebt die

Titration:

Dieselbe wurde mit $^1/_5$ Normalnatronlauge ausgeführt und zeigte die vierfache Basicität der Säure. 0,220 gr der aus dem Silbersalz wiedergewonnenen Säure wurden in verdünntem Weingeist gelöst und verbrauchten zur Neutralisation 18,20 cc $^1/_5$ Normalnatronlauge, während für vierfache Basizität berechnet waren 18,85 cc $^1/_5$ Normalnatronlauge.

Oxydations-Produkte B und C.

Die in Aether leichter löslichen Oxydationsprodukte wurden, wie erwähnt, durch kaltes Wasser getrennt. Das hierin leicht lösliche Produkt B erwies sich als unveränderte dreibasische Hämatinsäure. Zur völligen Reinigung des dritten Produktes C, dem leicht noch Hämatinsäure anhaftet, wird das Silbersalz dargestellt. Dies geschieht durch Lösen in verdünntem Weingeist, Neutralisieren mit Ammoniak und Fällen mit alkoholischer Silbernitratlösung; etwa

noch beigemengtes Silbersalz der Hämatinsäure wurde dann durch längeres Auswaschen weggeschafft und das zurückgebliebene Silbersalz im Vakuum getrocknet. Die Analyse desselben gab folgende Werte:

I. 0,1190 gr Substanz lieferten 0,0855 gr Kohlendioxyd und 0,0235 gr Wasser; im Schiffchen blieben 0,0695 gr Silber zurück.

II. 0,310 gr Substanz gaben 0,2115 gr Schwefelsilber = 0,184153 gr Silber.

Hiernach scheint eine zweibasische Säure von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_4$ vorzuliegen.

Berechnet für $C_6H_8Ag_2O_4$:	Gefunden:	
	I.	II.
C = 20,00 Proz.	19,59 Proz.	—
H = 2,22 »	2,19 »	—
Ag = 60,00 »	58,4 » [1])	59,4 Proz.

Ich versuchte nun die Säure wiederzugewinnen, indem ich nach dem Fällen des Silbers mit Schwefelwasserstoff diesen auf dem Wasserbad vertrieb und die eingedampfte filtrierte Lösung mit Essigester extrahierte, welcher sich für diesen Zweck besser als Aether eignete. Die nach dem abdestillieren des Essigesters erhaltene Säure wurde zunächst aus heissem Wasser, dann noch aus alkoholhaltigem Aether umkrystallisiert und so in schönen glatten nadelförmigen Krystallen erhalten, die in Wasser und Aether etwas schwer, sehr leicht in Weingeist sich lösten. Die Säure lässt sich auch aus konzentrierter Salpetersäure umkrystallisieren und zeigte einen ziemlich verschiedenen Schmelzpunkt, je nachdem man schnell oder langsam erhitzte, beim langsamen Erhitzen erhielt ich den Schmelzpunkt 180°. Nun wurde noch das Calciumsalz, welches krystallinische Struktur zeigt und wasserlöslich ist, und das Cadmiumsalz, welches in Wasser fast unlöslich ist und schön krystallisiert, dargestellt. Eine Analyse des letzteren gab folgendes Resultat:

0,115 gr Substanz bei 110° getrocknet gaben 0,0635 gr Cadmiumsulfid = 0,049365 gr Cadmium.

1) Im Schiffchen gewogen, deshalb ungenau.

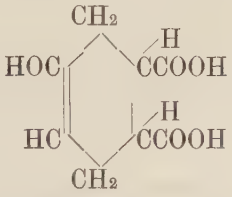
Berechnet für $C_6H_8O_4Cd$:	Gefunden:
Cd = 43,5 Proz.	42,9 Proz.

Nach diesen Eigenschaften zu urteilen, scheint Adipinsäure vorzuliegen. Was die quantitative Ausbeute an beiden Säuren betrifft, so wurden aus 4,70 gr dreibasischer Hämatinsäure 1,50 gr $C_8H_{10}O_8$ und 0,8 gr $C_6H_{10}O_4$ erhalten, während unverändert zurückgebliebene Hämatinsäure nicht quantitativ bestimmt werden konnte. Darnach waren also circa 50 % der Hämatinsäure umgewandelt worden nach der Gleichung:

$$2C_8H_8O_5 + 2O_2 + 2H_2O = C_8H_{10}O_8 + 2CO_2 + C_6H_{10}O_4.$$

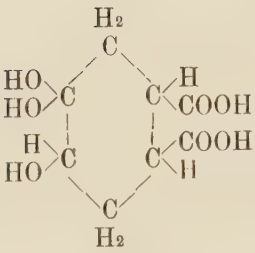
Die chemische Konstitution der gewonnenen Säuren.

Einen sicheren Einblick in die Konstitution der zweibasischen Hämatinsäure zu geben, ist durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht gelungen. Bestätigt wurde vor allem die doppelte Basizität der Säure, deren Karboxyle ich in Orthostellung sich befindend annehme, wegen der leichten Bildung des Anhydrids. Da die Säure in alkoholischer Lösung übermangansaures Kali sofort entfärbt, sich also als ungesättigt erweist, was durch die Fähigkeit des Esters Brom zu addieren, weiter bestätigt wird, bringt vielleicht das folgende Bild — welches ich mit allem Vorbehalt gebe — die Konstitution der zweibasischen Hämatinsäure zum Ausdruck:

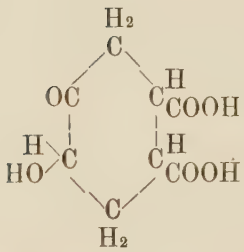


Allerdings konnte das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe auf dem von mir eingeschlagenen Wege nicht nachgewiesen werden. Wenn nun die Säure zur dreibasischen Hämatinsäure oxydiert wird, geschieht dies wohl in der Weise, dass sie zunächst zwei Hydroxylgruppen anlagert.

I.

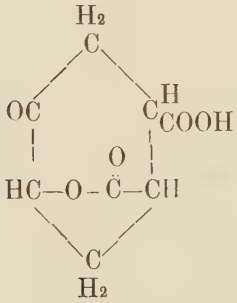


II.



Dreibasische Hämatinsäure.

III.

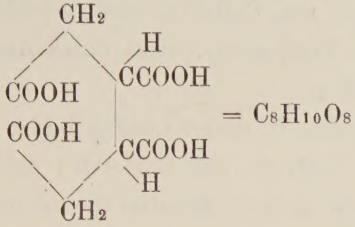


Lacton derselben.

Die beiden in I an demselben Kohlenstoffatom befindlichen Hydroxylgruppen spalten dann Wasser ab, und wir erhalten die Formel II, welche die Konstitution der dreibasischen Hämatinsäure zum Ausdruck bringen dürfte. Als eine γOxysäure wird sie leicht ein Lacton bilden, durch die Nachbarschaft der Karbonylgruppe erlangt die Hydroxylgruppe saure Eigenschaften, was beides bei der dreibasischen Hämatinsäure beobachtet wurde. Die vierbasische Säure $C_8H_{10}O_8$ erinnert in ihren Eigenschaften an die von K. Anwers und Jacob[1]) erwähnten Butantetracarbonsäuren, sowohl was den Schmelzpunkt als die Löslichkeitsverhältnisse betrifft, unterscheidet sich aber von diesen durch das nur drei Atome Metall enthaltende Silbersalz. Eine Säure von der oben erwähnten Konstitution wird in der That leicht durch weitere Oxydation in eine

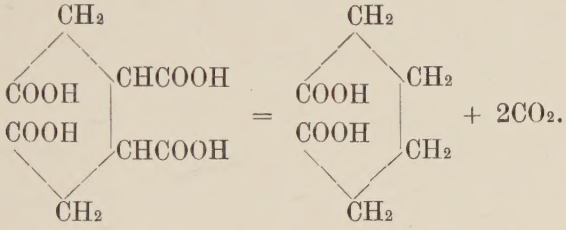
1) Ber. d. d. chem. Ges. 27. 1114.

Butantetracarbonsäure übergehen können, indem der Ring zwischen CO und CHOH gesprengt wird.



$= C_8H_{10}O_8$

Das letzte Oxydationsprodukt, das mit grosser Wahrscheinlichkeit als Adipinsäure angesehen werden darf, entsteht dann durch einfache Kohlensäure-Abspaltung.



Perkin[1]) beschreibt ebenfalls eine Butantetracarbonsäure, die in Adipinsäure und Kohlensäure zerfällt. Da wegen Mangels an Material eine genauere Untersuchung der vierbasischen Säure nicht stattfinden konnte, hoffe ich nach Herbeischaffung grösserer Mengen dieselbe näher untersuchen zu können und einen genaueren Einblick in ihre Konstitution zu erhalten.

Resultate vorliegender Untersuchung.

1) Bei der Oxydation des Hämatins durch Chromsäure entwickelt sich nur wenig Kohlensäure.

2) Die zweibasische Hämatinsäure $C_8H_{10}O_5$ wird in essigsaurer Lösung durch Chromsäure nicht angegriffen

3) in alkalischer Lösung aber sofort zu $C_8H_{10}O_6$ oxydiert.

4) Calcium und Strontium geben saure Salze, Baryum unter denselben Bedingungen ein neutrales Salz.

---

1) Ber. d. d. chem. Ges. 19. 2040.

5) Die Säure addiert Brom in Lösung von Chloroform nicht, ihr Ester aber vereinigt sich mit Brom.

6) Das Anhydrid von $C_8H_{10}O_5$ wird gebildet durch Benzoylchlorid bei erhöhter Temperatur, nicht durch Acetylchlorid bei gewöhnlicher Temperatur.

7) Durch Oxydation in saurer Lösung bilden sich aus $C_8H_{10}O_6$ zwei neue Säuren: $C_8H_{10}O_8$ und $C_6H_{10}O_4$; die letztere ist wahrscheinlich Adipinsäure, welches Resultat darauf deuten könnte, dass in der Hämatinsäure ein Sechsring enthalten ist, da Adipinsäure als Spaltungsprodukt solcher Systeme schon oft beobachtet wurde.